

ポリ塩化ビニル膜を用いる比色定量法

第二技術室 化学計測班 瀬戸 六左衛門

1. はじめに

試料水中の微量金属成分の濃縮分離法として、液-液抽出法がよく用いられているが近年、従来の液-液抽出法から固相を抽出媒体とした簡易抽出法が開発されている。

この固相抽出法については、その一部を平成14・15年度で研修し報告している。

固相抽出測定法は、多くの場合、固相を金属錯塩の吸着媒体としているが、あらかじめ固相自身に金属イオンの選択性を持たせた比色分析法も試みられている。これには、キレート試薬を含有した膜を金属イオンを含む水溶液に入れ、溶液と接触させて膜中でキレート錯体を形成させ、金属イオンを捕捉する。その後、発色した膜の発色強度を吸光光度計により測定し、金属イオンを定量する方法がある。この方法は、目的成分を固相に選択的に捕集し濃縮することで、高感度定量が可能となる。

本研修では、固相媒体に高感度比色試薬を含有したポリ塩化ビニル(PVC)膜を用いて金属イオンの定量法を検討した。

2. 実験

2・1 試薬

比色試薬として、ドータイト試薬バソフェナントロリン、バソクプロイン、N-ベンゾイル-N-フェニルヒドロキシルアミン(BPA)、1,3ジアミノ-4-(5プロモ-2-ピリジルアゾ)ベンゼン(5-Br-PADAB)、サリチルアルデハイド-2-オキサニル(SAPH)、クロマズロールSを用いた。また、o-NPOEはドータイト試薬、PVCは $n=1100$ の和光純薬、テトラヒドロフラン(THF)、酢酸等試薬は特級試薬(和光純薬工業製)を使用した。

2・2 装置

吸収スペクトル及び吸光度の測定は、日立200-20型吸光光度計を使用した。セルは光路長10mmのガラスセルを用いた。

2・3 感応膜の作製

比色試薬は、バソフェナントロリン、バソクプロイン、BPA、5-Br-PADAB、SAPH、クロマズロールSを用いて、感応膜を作製した。

例えば、バソフェナントロリンの場合、バソフェナントロリン0.0363g、PVC 1.2842g、o-NPOE 2.4336gを精秤する。組成は、各々1.0、34.0及び65.0wt%となる。

この混合物にTHF 30 cm³を少量ずつ加えて溶解した後、内径14.7cmの平底ガラスシャーレにキャストイングし、ふたをして半日放置する。THFが揮散すると、ごくわずかに黄色を帯びた透明で柔軟性のある膜が形成される。この膜を1×1cmの大

きさに裁断し、実験に使用した。膜の厚さは、 $1.6 \times 10^{-2} \text{ cm}$ であった。

2. 4 測定法

スポット濃縮法に用いた濃縮プレートの構造をFig 1 に示す。厚さ0.2cm.のテフロン (PTFE) 製プレート (1.5×5.4 cm) を2枚用意し、一方のプレートに直径0.45 cm の孔をあけた。孔の容積は $3.18 \times 10^{-2} \text{ cm}^3$ であった。この2枚のプレートに1×1cm に裁断した膜を挟み、二つのプレートをクリップで固定した。

定量は、金属イオンを含む試料溶液に緩衝溶液や酸化・還元溶液等を加えて調整し、定容とする。この溶液をマイクロシリンジを用いて、定容量 (15~20 μl) を採取し、濃縮ボードの孔に滴下し、55℃の乾燥機内で蒸発乾固してスポット濃縮を行った。その後、発色したPVA膜を水洗し、10 mmのガラスセルに載せて吸光光度計によりそれぞれの金属錯体の最大吸収波長で吸光度を測定した。

また、これと平行して純水についても上記と同様の操作を行い、膜の空試験の吸光度の測定を行った。そして、試料側のスポットの吸光度から空試験側の吸光度を減算して、検量線より金属イオン量を算出した。

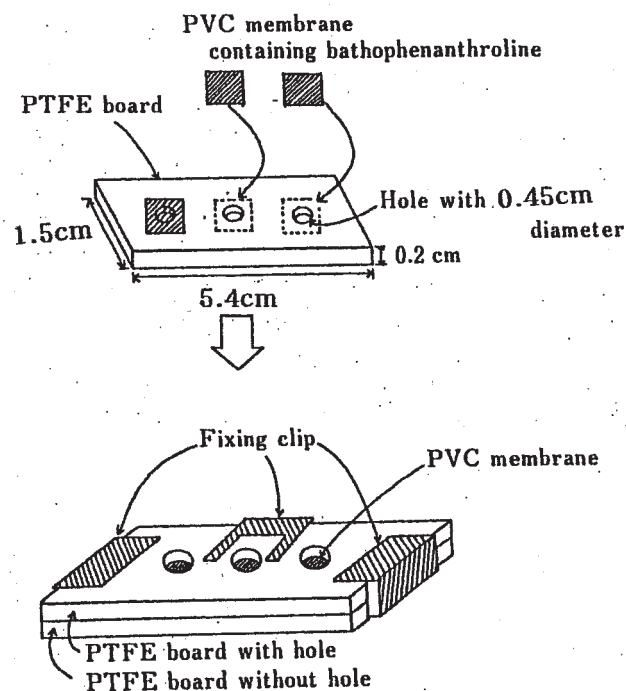


Fig. 1 Structure of concentrating board

3 結果と考察

3. 3. 1 感応膜と金属イオンの錯形成

2. 3の感応膜の作製操作に従い、バソフェナントロリン、バソクプロイン、BPA、5-Br-PADAB、SAPH、クロマズロールSの比色試薬を用い感応膜を作製した。

これらの比色試薬は、Table1に示す金属イオンと錯形成を行う。

BPAを含有したPVA膜は、ごく淡い黄色で、バックグラウンドは小さいもののV、Feとの錯形成が悪く明確な発色は見られなかった。

5-Br-PADABを含有したPVA

Table 1

比 色 試 薬	主な金属イオン
バソフェナントロリン	Fe^{2+} , Ru^{2+}
バソクプロイン	Cu^{+}
B P A	V, Fe, Nb, Ti
5 - Br - P A D A B	Co, Fe, Cu, Ni, Zn
S A P H	Cu, Al
クロマズロールS	Fe^{3+} , Al, Ni

膜は、比色試薬が少量にもかかわらず黄橙色となり、バックグラウンドが高くなり、吸光度の差が小さく有効な測定法にならなかった。

SAPHを含有したPVA膜は、無色に近く、バックグラウンドは小さいものの、Cu、Alとの錯形成が悪く、明確な発色は見られなかった。

クロマズロールSを含有したPVA膜は、うす紫色となりバックグラウンドは中程度であったがFe、Al、Niと錯形成がやや悪く、吸光度の差も小さく、これも有効な測定法にならなかった。

バソフェナントロリンを含有したPVA膜は、スポット濃縮で定量することができ、バソクプロインを含有したPVA膜は、バソフェナントロリンを含有したPVA膜よりもうすい黄色で、Cu⁺との錯形成反応もよく、スポット濃縮で定量することができた。

3. 2 バソフェナントロリン-PVC膜によるFe²⁺の定量

3. 2. 1 スポットの発色モデル

試料水中で還元された配位子6を持つ鉄(II)イオンは、膜表面でバソフェナントロリン(L)と1対3のモル比で錯イオン[Fe·L₃]²⁺を形成し、更に陰イオン(Cl⁻)と対イオンを生じて、鉄(II)イオン、バソフェナントロリン及びCl⁻とそれぞれ1:3:2のモル比から成る中性錯体[Fe·L₃·2Cl]を形成し膜中に濃縮される。



このときのスポット部は赤色を発し、その発色強度は鉄(II)イオンに依存する。そこで、このスポットの吸光度を測定することにより、未知試料中の鉄(II)イオン濃度を定量することができる。

3. 2. 2 測定法

2. 3の感応膜の作製操作に従い、感応膜を作製した。溶液の調整は、鉄イオンを含む試料溶液に、L(+)-アスコルビン酸水溶液(Fe³⁺→Fe²⁺)、塩化カリウム水溶液、pH 5.0の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液を加えて10 cm³とした。この溶液をマイクロシリンジを用いて15 μl採取し、2. 4の操作に従い、波長538nmで吸光度を測定した。

3. 2. 3 pH及び対イオンならびに乾燥温度による

スポット発色強度への影響

スポット上での鉄錯体の形成におけるpHの影響を検討した。溶液のpHを3~11まで変化させたところ、pH 3~5の弱酸性の領域でスポットの吸光度は高くほぼ一定となったが、pHの上昇とともにスポットの吸光度は低下した。強酸性下においては、膜中のバソフェナントロリンの水溶液中への剥離、アルカリ性下では鉄(II)水酸化物の形成による膜への抽出の妨害が生じた。本法では、最も高いスポットの吸光度が得られたpH 5.0に設定した。

膜界面で形成された[Fe·L₃]²⁺とイオン対を生じる対イオンの種類に対するスポットの吸光度を検討した結果、Cl⁻を対イオンとしたときが最も高い吸光度が得られ、次いでI⁻が良好であった。I⁻を用いた場合、膜がやや黄色味をおび、バックグラウンドが大きくなるため、本法では、Cl⁻としてのKCl溶液を用いた。

スポット濃縮時における乾燥温度の影響について、蒸発乾固温度を40～60℃の範囲で発色実験を行った。その結果、温度上昇とともに蒸発に要する時間は減少したが、60℃以上では膜のスポットが均一に発色せず、正確な吸光度を測定できなかった。一方、60℃以下では蒸発に要する時間は長くなるが、得られた膜のスポットの吸光度は一定であった。本法では、短時間（約30分）で濃縮でき、スポットの発色が均一であった55℃を濃縮温度とした。

3. 2. 4 鉄イオンとスポット発色強度の関係（検量線）

本法のスポット比色定量法による鉄イオン濃度と吸光度の関係を調べた。その結果、スポットの吸光度は鉄イオン濃度の上昇とともに増加し、両者の間に比例関係が成立した。

3. 2. 5 バソクプロイン-PVC膜による銅（I）の定量

2. 3の感応膜作製操作に従い、バソクプロイン-PVC膜を作製した。ただしバソクプロインは、0.036gを用いた。

測定法は、銅イオンを含む試料溶液に、L(+)-アスコルビン酸水溶液（ $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{+}$ ）pH6の酢酸緩衝溶液を加えて10 cm^3 とした。この溶液をマイクロシリンジを用いて20 μl 採取し、2. 4の操作に従い、波長480nmで吸光度を測定した。

その結果、スポットの吸光度は銅イオン濃度の上昇とともに増加し、両者の間に比例関係が成立した。

4 まとめ

本研修では、固相媒体に高感度比色試薬を含有したPVC膜を用いて金属イオンの定量法を検討した。その結果、バソフェナントロリン-PVA膜では被検溶液15 μl で2ppmの Fe^{2+} 、バソクプロイン-PVA膜では被検溶液20 μl で2ppmの Cu^{+} を定量することができた。

本法は、従来の液-液抽出法の利点に加えて、（1）小体積の媒体への濃縮が容易に行えるので微量定量が可能、（2）固相の体積を小さくすることにより高価な比色試薬を用いる場合のランニングコストが抑えられる、（3）液-液抽出でしばしば問題となるエマルション生成が皆無、（4）有機溶媒による二次的環境汚染の問題が著しく低減される、などの利点を有している。加えて、定量操作も簡便である。

しかし、被検溶液量が少ないため、やや再現性が悪く、感応膜作製時の均一化に工夫が必要である。

また、実試料への応用を課題としていたが、妨害イオン種等の検討ができなかったため、実試料への応用ができなかった。今後の課題としたい。